

Jenni Sunnari

Trikiinitutkimukset

Trikiinitutkimusten käynnistäminen Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa

Opinnäytetyö

Kevät 2012

Tekniikan yksikkö

Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma



SEINÄJOEN AMMATTIKORKEAKOULU

Opinnäytetyön tiivistelmä

Koulutusyksikkö: Tekniikka ja liikenne

Koulutusohjelma: Bio- ja elintarviketekniikka

Suuntautumisvaihtoehto: Elintarviketekniikka

Tekijä: Jenni Sunnari

Työn nimi: Trikiinitutkimukset/ Trikiinitutkimusten käynnistäminen Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa

Ohjaaja: Jarmo Alarinta

Vuosi: 2012

Sivumäärä: 52

Liitteiden lukumäärä: 0

Lihan loista, trikiiniä, voidaan tutkia digestiomenetelmillä tai puristus- eli kompressiomenetelmällä. Digestiomenetelmä voidaan toteuttaa kahdella tavalla: magneettisekoitin-digestiomenetelmällä tai stomacher-digestiomenetelmällä. Tämän opinnäytetyön tavoitteena on ollut sisäanjaa trikiinitutkimuksia palveleva stomacher-digestiomenetelmä Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorioon.

Lainsäädäntö ohjaa vankasti trikiinitutkimuksia ja niiden muuttuessa akkreditoitavaksi menetelmäksi esimerkiksi pienten teurastamoiden kyljessä toimivien trikiinitutkimuslaboratorioiden oli kannattavampaa ulkoistaa toimintansa. Koska kyseessä on vastuullinen tutkimus, lainsäädäntö määrittelee esimerkiksi sen, miten trikiinitutkimus tehdään ja minkälainen pätevyys tutkimuksia tekeville henkilöillä tulee olla.

Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa menetelmän käynnistämisen yhteydessä esille nousivat kolme lakisääteistä kokonaisuutta: välineistö, henkilöstö ja laboratorio. Välineistö hankittiin ja sijoitettiin paikoilleen, henkilöstö kävi läpi trikiinikoulutuksen ja laboratorion piti hakea Eviran arviointia ennen trikiinitutkimusten aloittamista. Tutkimusten käynnistymisen jälkeen laboratorio aloitti laajan dokumentaation pidon, joka myöhemmin on edellytys akkreditoinnille.

Avainsanat: laboratorio, trikiini, trikinoosi, akkreditointi

SEINÄJOKI UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

Thesis abstract

Faculty: School of Technology

Degree programme: Food Processing and Biotechnology

Specialisation: Food Technology

Author: Jenni Sunnari

Title of thesis: Trichinella Researches

Supervisor: Jarmo Alarinta

Year: 2012

Number of pages: 52

Number of appendices: 0

The aim of the thesis was to introduce trichinella research methods at the Food and Environment laboratory of Seinäjoki. Trichinella is a nematode parasite, which can occur in carnivorous animals. According to the Government regulation the research of trichinella must be done in accredited laboratories. For the trichinella research laboratories of small slaughterhouses it was economically more worthwhile to outsource research to organizations like Seinäjoki's Food and Environment laboratory than accredit their own function.

Trichinella can be researched with two methods. The first is digestion method, which can be done in two ways: by the magnetic stirrer method or the Stomacher digestion method. The second method is the trichinoscopy method. Stomacher digestion method was the choice of the Food and Environment laboratory of Seinäjoki.

The legislation has a huge impact on starting trichinella research, because it is such a responsible function. The validity of equipment, personnel and laboratory are three main entities in starting this kind of research. Research was started and now the laboratory does wide documentation about the research. The documents will be the basis for the accreditation.

Keywords: laboratory, trichinella, trichinosis, accreditation

SISÄLTÖ

Opinnäytetyön tiivistelmä.....	2
Thesis abstract.....	3
SISÄLTÖ	4
Kuvio- ja taulukkoluetelo.....	6
Käytetyt termit ja lyhenteet	8
1 JOHDANTO	9
1.1 Yhteistyö Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion kanssa.....	9
1.2 Trikiinitutkimusten aloittamisen taustaa.....	9
2 TRIKIINI	11
2.1 Trichinella-suku ja levinneisyys	12
2.2 Trikinooosi tai trikinelloosi	14
2.2.1 Trikiinitartunnan eteneminen.....	14
2.2.2 Trikinooosin oireet.....	15
2.3 Trikiinin historiaa	15
2.4 Trikiinin esiintyvyys Suomessa.....	17
2.5 Luomusika trikiininäkökulmasta.....	19
3 TRIKIINITUTKIMUS	21
3.1 Tutkimustilat ja -henkilöt.....	21
3.2 Tutkimusten näytteenotto.....	21
3.3 Tutkimusmenetelmät.....	22
3.3.1 Stomacher-digestiomenetelmä	23
3.3.2 Magneettisekoitin-digestiomenetelmä	26
3.3.3 Puristus- eli kompressiomenetelmä	27
3.4 Tutkimus digestiomenetelmällä vajaissa erissä	27
3.4.1 Stomacher-digestiomenetelmä alle 100 gramman näyte-erissä	28
3.4.2 Magneettisekoitin-digestiomenetelmä alle 100 gramman näyte-erissä	28
3.5 Toiminta trikiinipositiivisten näytteiden kohdalla	29
3.6 Välineiden puhdistus ja laboratorion kirjanpito	30

4	TRIKIINITUTKIMUKSEN KÄYNNISTÄMINEN SEINÄJOEN ELINTARVIKE- JA YMPÄRISTÖLABORATORIOSSA	31
4.1	Välineistö	31
4.2	Henkilöstö	33
4.2.1	Trikiiniharjoittelu	33
4.2.2	Trikiinitutkimuskurssi Oulun Eviralla.....	35
4.3	Laboratorio.....	37
4.3.1	Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion kelpoisuus trikiinitutkimuksiin	37
4.3.2	Eviran arviointi trikiinitutkimusmenetelmälle.....	38
5	TRIKIINITUTKIMUKSEN TEKO SEINÄJOEN ELINTARVIKE- JA YMPÄRISTÖLABORATORIOSSA	39
5.1	Näyte.....	39
5.2	Tutkimus vaihe vaiheelta kuvien kanssa	39
5.3	Tulokset	46
5.4	Huomioita trikiinitutkimuksen jälkeen	47
6	YHTEENVETO.....	50
	LÄHTEET	51

Kuvio- ja taulukkoluetelo

Kuvio 1. Trikiini. (A-Z Guide to Parasitology, [viitattu 30.6.11].)	11
Kuvio 2. Trikiiniloisen esiintyvyyden seuranta 2000-luvulla teurassioissa. (Zoonosikeskus. Trikinellaloisen esiintyvyyden seuranta 2000-luvulla teurassioissa, [viitattu 2.4.2012].).....	18
Kuvio 3. Stomacher.....	24
Kuvio 4. Erotussuppilo kytkettynä telineeseen, jonka alla täristinlaitteisto ja täristimen vieressä täryttämisen ajastin.	25
Kuvio 5. Stomacher vetokaapissa.....	32
Kuvio 6. Erotussuppilo sijoitettuna vetokaappiin.	33
Kuvio 7. Havainnekuva mikroskoopin näkymästä ja ruudun asettumisesta näkymään.	37
Kuvio 8. Näytteiden punnitus.	40
Kuvio 9. Pepsiinin punnitus.....	40
Kuvio 10. Suolahapon lisääminen stomacher-pussiin.....	41
Kuvio 11. Lihasnäytteiden lisääminen stomacher-pussiin.....	41
Kuvio 12. Pepsiinin lisääminen stomacher-pussiin.	42
Kuvio 13. Stomacherin luukku suljettuna ja pussi sen sisällä.	42

Kuvio 14. Näyteliuoksen kaataminen siivilän ja suppilon läpi dekantterilasiin.	43
Kuvio 15. Näyteliuoksen kaataminen erotussuppiloon.	43
Kuvio 16. Näyteliuoksen täryttäminen erotussuppilossa.	44
Kuvio 17. Näyteliuoksen laskeminen erotussuppilosta mittalasiin.	44
Kuvio 18. Näyteliuoksen imeminen ruiskulla.	45
Kuvio 19. Kirkastetun näyteliuoksen kaataminen petrimaljalle.	45
Kuvio 20. Stereomikroskooppi.	46
 Taulukko 1. Yhteenveto Suomessa esiintyvistä lajeista, niiden levinneisyydestä, infektiivisyydestä, kantajaeläimistä ja pakkasenkestävyydestä. (Oivanen 2004.) .	13
 Taulukko 2. Luonnonvaraisten eläinten trikiinitutkimukset vuosina 2000 – 2010. (Zoonosikeskus. Luonnonvaraisten eläinten Trichinella spp. tutkimukset 2000 – 2010, [viitattu 3.4.2012].)	19
 Taulukko 3. Yhteenvetotaulukko trikiinitutkimuksen näytteenotosta. (A 4/EEO/2002.)	22
 Taulukko 4. Esimerkki kirjanpidosta.	35
 Taulukko 5. Eviran positiivisen näytteen trikiinitutkimuksen kirjanpito.	47
 Taulukko 6. Veden, reagenssien ja jäämurskan määrät trikiinitutkimuksissa.	48

Käytetyt termit ja lyhenteet

Akkreditointi	Pätevyyden toteamista. Kansainvälisiin kriteereihin perustuva menettelytapa, jonka avulla toimielimen pätevyys ja sen antamien todistusten uskottavuus voidaan luotettavasti todeta.
Eosinofilia	Verenkuva, josta voidaan havaita paljon valkosoluja.
Parasiitti	Loiset, jotka tarvitsevat elääkseen isäntäorganismin.
Stomacher	Homogenisaattori, sekoitin, joka homogenisoi faasit.
Sukkulamato	Jaokkeeton, molemmista päistä oheneva mato, jolla ei ole verenkierto- ja hengityselimistöä. Omaa kehittyneen lisääntymiselimistön. Loisina ovat usein vakavia.
Trikinoskooppi	Eräänlainen avonainen koppi, heijastinmikroskooppi, jota käytetään lihan tutkimiseen, jossa epäillään olevan trikiinejä.

1 JOHDANTO

1.1 Yhteistyö Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion kanssa

Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorio sijaitsee Seinäjoella Foodwest rakennuksessa. Pääasiallisina pätevyysalueina ovat elintarviketutkimukset, salmonellatutkimukset, maa- ja lantatutkimukset, rehututkimukset, vesitutkimukset ja kliiniset eläintutkimukset. Laboratorio on jaettu kolmeen yksikköön: mikrobiologian laboratorioon, kemian laboratorioon ja maanäytelaboratorioon. Organisaatio työllistää toista kymmentä henkilöä. (SeiLab 2008.)

Yhteistyö Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion kanssa alkoi työharjoitteluna, jonka aikana tarjottiin mahdollisuus opinnäytetyöhön. Aihe käsittelee trikiiniloista ja trikiinitutkimusten käynnistämistä kyseissä organisaatioissa. Opinnäytetyö toteutettiin mikrobiologian laboratoriossa.

1.2 Trikiinitutkimusten aloittamisen taustaa

Lihantarkastuslaki vaatii lihan trikiinitutkimuksen loisen varalta eläimissä, jotka syövät ravinnokseen muita eläimiä tai niiden jätöksiä. Trikiinitutkimuksia on tehty vaihtelevissa olosuhteissa pienteurastamoiden lihantarkastuslaboratorioista akkreditoituihin paikallislaboratorioihin. Vuoden 2010 alusta niin kutsutun valvonta-asetuksen (EY 882/2004) täytäntöönpanolle myönnetyn siirtymäkauden päättymisen johti siihen, että trikiinitutkimuslaboratorio on oltava akkreditoitu standardin SFS-EN ISO/IEC 17025 mukaisesti. Lisäksi trikiinitutkimuslaboratorio täytyy olla Eviran hyväksymä. (Rissanen 2009.)

Kirjallinen laatujärjestelmä, tekninen pätevyys ja luotettavat tulokset ovat lihantarkastuslaboratorioksi hyväksymisen edellytyksenä. Trikiinitutkimuksia tekevän henkilön tulee puolestaan suorittaa trikiinitutkimukseen kuuluva koulutus ennen kuin voi aloittaa tutkimusten teon. (Rissanen 2009.)

Laboratorion pätevyys ja laboratorion antamien todistusten uskottavuus todetaan akkreditoinnin avulla. FINAS-akkreditointipalvelu vertailee akkreditoitavan laboratorion toimintaa kansainvälisen standardin vaatimuksiin. Akkreditointi on maksullista ja sen vuoksi monissa teurastamoissa (etenkin pienimuotoiset teurastamot) on ollut syytä miettiä, onko oman laboratorion akkreditoinnin sijaan kannattavampaa ulkoistaa trikiinitutkimus esimerkiksi Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion kaltaisiin organisaatioihin. (Rissanen 2009.)

Asetuksen (EY 882/2004) myötä Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriosta on tullut vartenotettava trikiinitutkimusten tekijä. Aloittaminen vaatii kuitenkin omat laitteensa ja tutkimushenkilöt sekä viranomaisen hyväksynnän menetelmälle. Näihin asioihin pohjautuen laadittiin tämä opinnäytetyö.

2 TRIKIINI

Trikiini tai trikinella on mikroskoopilla nähtävä parasiitti, joka kuuluu sukkulamatoihin. Trikiinejä esiintyy lihaa syövissä lajeissa, kuten siassa, karhussa tai villisiassa. Hevosista löytyneen trikiinien alkuperänä pidetään heiniin tai rehuun sekoittunutta rotanraatoa (Rahkio 2009). Ihminen voi saada tartunnan syömällä huonosti kypsennettyä trikiinipitoista lihaa. Mahalaukussa trikiini vapautuu sidekudosekapselistaan koteloituakseen uuden isännän lihaksiin. Tartunta voi olla ihmiselle hengenvaarallinen, joten esimerkiksi sian teurastuksen yhteydessä jokaisesta siasta otetaan näyte trikiinitutkimuksia varten. Myös kaadetusta karhusta tai villisiasta on otettava näyte. Trikiinin löytyessä tulee ruho hävittää kokonaan. (Hallanvuori & Johansson 2010, 186–189)

Vastasyntynyt trikiinin toukka on pituudeltaan 80–120 µm ja halkaisijaltaan 5–6 µm. Toukat alkavat kasvaa vasta, kunnes ovat tunkeutuneet lihassoluun ja koteloituneet. Kuukauden aikana ne saavuttavat 900–1280 µm:n pituuden ja halkaisijaltaan 35–40 µm:n läpimitan. Aikuisena naaraat ovat hieman kookkaampia kuin urokset. Naaraat kasvavat 2460–3390 µm:n pituisiksi ja läpimitaan 35–70 µm, kun taas urokset jäävät huomattavasti pienemmiksi. Ne kasvavat pituudeltaan 1040–1300 µm:iin ja läpimitaan 29 – 32 µm. Pituuksissa ja halkaisijoissa ei ole lajikohtaisia eroja. Alla olevassa kuvassa (Kuvio 1) on trikiini tyypillisessä asennossaan. (Oivanen 2005.)



Kuvio 1. Trikiini. (A-Z Guide to Parasitology, [viitattu 30.6.11].)

2.1 Trichinella-suku ja levinneisyys

Trichinella-sukuun kuuluu monta lajia. Kaikkiaan tunnetaan 8 lajia ja lisäksi 3 genotyyppiä, joita ei vielä ole määritetty omiksi lajeikseen. Lajien tunnistus ei perustu rakenteellisiin ominaisuuksiin vaan biologisiin, molekyylitason ja biokemiallisiin ominaisuuksiin. Alla olevassa luettelossa on listattu kaikki lajit, joista neljää ensimmäistä on esiintynyt Suomessa. (Evira 2010; Oivanen 2005)

Trichinella-sukuun kuuluvat

- *Trichinella spiralis*
- *Trichinella nativa*
- *Trichinella britovi*
- *Trichinella pseudospiralis*
- *Trichinella nelsoni*
- *Trichinella papuae*
- *Trichinella murrelli*
- *Trichinella zimbabwensis*
- *Trichinella* 6
- *Trichinella* 8 ja
- *Trichinella* 9. (Oivanen 2004.)

Eri lajeja tavataan eri puolilla maailmaa, mutta *Trichinella spiralis* ja *Trichinella pseudospiralis* ovat kuitenkin maailmanlaajuisia. *Trichinella nativa* on laajalle levinnyt arktisilla ja subarktisilla alueilla. *Trichinella britovia* on tavattu koko Euraasian alueella ja *Trichinella nelsonia* päiväntasaajalla ja eteläisessä Afrikassa. *Trichinella murrellia* on puolestaan tavattu Pohjois-Amerikassa ja *Trichinella*

papuae sekä *Trichinella zimbabwensis* esiintyvät nimiensä mukaisesti Papua-Uudessa-Guineassa ja Zimbabwessa. (Oivanen 2005.)

Alla on laadittu taulukko (Taulukko 1) Suomessa esiintyvistä lajeista. Taulukossa on yhteenvedona lajien pääasialliset kantajaeläimet, infektiivisyys ihmiselle, levinneisyys sekä kantajaeläimet Suomessa sekä onko laji pakkasta kestävä vai ei.

Taulukko 1. Yhteenvedo Suomessa esiintyvistä lajeista, niiden levinneisyydestä, infektiivisyydestä, kantajaeläimistä ja pakkasenkestävyydestä. (Oivanen 2004.)

Trikiinilaji	Kantaja-eläimet	Infektiivisyys ihmiselle	Levinneisyys	Kantajaeläimet Suomessa	Pakkasen-kestävä
T. spiralis	Sika, hevonen, villisika, rotta, lihansyöjät	Voimakkaasti infektiivinen	Eurooppa, Aasia, P- ja E-Amerikka, Uusi Seelanti	Sika, tarhattu villisika, rotta, kissa, supikoira, kettu	Ei
T. nativa	Karhu, lihansyöjät, sika, villisika, ilves	Kohtalaisen infektiivinen	Arktiset, subarktiset alueet kuten Skandinavia	Karhu, kettu, susi, supikoira, ilves	Kyllä (18 kk -15 °C, 9vrk -30 °C)
T. britovi	Lihansyöjät, villisika, hevonen	Kohtalaisen infektiivinen	Lauhkea ilmastovyöhyke: Keski- ja Etelä-Eurooppa, Japani	Supikoira	Kyllä, kohtalaisesti (6 kk -20 °C)
T. pseudospiralis	Sika, villisika, supikoira, linnut	On aiheuttanut epidemioita ihmiselle	Itä-Eurooppa, Aasian keskiosat, Thaimaa, Tasmania, USA	Supikoira, tarhattu ja luonnonvarainen villisika	?

2.2 Trikinooosi tai trikinelloosi

2.2.1 Trikiinitartunnan eteneminen

Trikiinitartunnasta kehittynyt lihassairaus on nimeltään trikinooosi tai trikinelloosi. Tartunnan voi saada sekä eläimet että ihmiset, oireet tosin poikkeavat toisistaan. Eläimillä nousee usein kuume ja ne voivat olla väsyneitä ja haluttomia, mutta myös oireettomia, kun taas ihmisellä oireet voivat olla vakavampaa laatua. Tartunta etenee seuraavaksi kuvatulla tavalla. (Evira 2010.)

Elimistöön päätyneet riittämättömästi kypsennetyn lihan trikiinitoukat vapautuvat sidekudoskapseleistaan mahanesteiden vaikutuksesta. Toukat kehittyvät aikuismuodoiksi ja parittelu tapahtuu 2–4 päivässä. Parittelun jälkeen urokset kuolevat ja naaraat kiinnittyvät ohutsuolen limakalvoon. Naaraan kohdussa kehitty 500–1500 poikasta. Synnyttyään poikaset tunkeutuvat suolen seinämän läpi isäntäeläimen elimistöön sekä verenkierron välityksellä että suoraan kudosten läpi. Noin viikon jälkeen tartunnasta toukat asettuvat poikkijuovaisiin lihaksiin, jossa ne jatkavat kehitystään. (Oivanen 2004.)

Kuuden päivän jälkeen lihakseen kiinnittymisestä toukka kiertyy spiraalille ja 10. päivän jälkeen pystytään selvittämään sukupuoli. Toukka on tässä vaiheessa jo tartuntakykyinen. Toukan ympärille muodostuu sidekudoskapseli 25. päivän tietämillä. Sidekudoskapseli alkaa kalkkeutua noin puolen vuoden kuluttua lihakseen kiinnittymisestä ja se etenee myös toukkaan. Toukat säilyvät elävinä kapselin sisällä, sialla 12 vuotta ja ihmisellä jopa 31 vuotta. Kierto alkaa uudelleen, jos isäntäeläin päätty jonkin muun eläimen tai ihmisen ravinnoksi. Isäntäeläimen kuollessa säilyttää trikiini infektiivisyytensä viikkoja tai sitäkin kauemmin. (Oivanen 2004; Evira 2010)

2.2.2 Trikinoozin oireet

Trikinooziin tai trikinelloosiin sairastumiseen johtaa trikiinin erittämä myrkky. Riittävä infektiomäärä ihmiselle on pieni, noin 70 kpl toukkia ihmistä kohden. Infektiomäärän täytyessä on oireet tavattu jakaa kolmeen vaiheeseen. Ensimmäinen vaihe on suolistovaihe, joka on 5–15 vuorokautta tartunnasta. Oireita ovat ripuli, vatsakipu, turvotus silmien ympärillä, kuumeilu ja ummetus. Nämä oireet aiheutuvat ohutsuolen limakalvoon kiinnittyneistä aikuismuodoista tai suolen seinämän läpi tunkeutuneista vastasyntyneistä toukista. Kyseiset oireet voivat kestää viikosta kuukauteen. (Oivanen 2004.)

Toisena on vaellusvaihe, joka ilmenee 2–8 viikkoa tartunnan jälkeen. Oireina ovat lihaskivut, kasvojen turvotus, kuumeilu, päänsärky, anoreksia, pyörtyily, hikoilu, jano ja eosinofilia. Vakavimmillaan kyseisestä vaiheesta voi aiheutua aivotulehdus, lihashalvaukset, sydämen toiminnan häiriöt, keskenmeno, keskushermosto-oireita, jopa kuolema. Viikoista 8 ja 9 eteenpäin puhutaan kolmannesta vaiheesta, lihasvaiheesta, jota kutsutaan myös paranemisvaiheeksi. Tällöin oireena voi olla vielä lihasjäykkyyttä. (Oivanen 2004.)

Ihmisillä tartunnan varmistamiseksi tarvitaan useita testejä, verinäytteitä ja lihaskoepaloja. Lisäksi potilaan kertomat esitiedot mahdollisista tartunnanlähteistä ovat tärkeitä. (Evira 2010.)

Trikinooziin sairastuneista potilaista 25 % saa oireita vuosienkin kuluttua. Tällöin oireita voivat olla keskushermosto-oireet, sydänlihastulehdus ja hengityshalvaus. (Oivanen 2004.)

2.3 Trikiinin historiaa

Trikiinin aiheuttamasta sairaudesta on ollut viitteitä jo tuhansia vuosia, esimerkiksi muinaisessa Egyptissä haukkapäisen Horus-jumalan palvojia kiellettiin syömästä sian lihaa. Kiellon perusteena on ollut kokemus, että sianlihan syömisestä saattoi

olla seurauksena jopa hengenvaarallinen sairaus. Siihen perustuu myös Raamatun ja myöhemmin Koraanin sanoma sian saastaisuudesta, minkä vuoksi juutalaiset ja islaminuskoiset eivät nykyäänkään syö sianlihaa. (Forsius 2000.)

Forsiuksen mukaan kirjallisuudesta löytyy tietoa, että trikinoosiin viittaavaa sairautta on ollut Saksassa Württembergin seudulla vuonna 1645. Vuoden 1760 tienoilla trikiinejä löydettiin ihmisen ulosteesta ja vuonna 1828 niitä löydettiin ihmisen lihaksesta. James Paget teki ensimmäisenä ruumiinavauslöydön trikiineistä vuonna 1835. (Forsius 2000.)

Vuonna 1845 Saksassa seitsemän henkeä sairastui, kun olivat syöneet samassa majatalossa makkaraa ja kinkkua sekä valko- ja punaviiniä. Neljä heistä kuoli. Aluksi syyksi epäiltiin valkoviinin aiheuttamaa myrkytystä, koska kahdeksas ja oireettomaksi jäänyt ruokavieras oli juonut vain punaviiniä. Taudin todellinen laatu selvisi vasta vuonna 1863. Silloin yhdelle taudista toipuneelle tehtiin leikkaus kaulalla olleen kasvaimen vuoksi ja leikkauksen suorittanut lääkäri Bernhard Rudolph Conrad von Langenbeck (1810–1887) havaitsi potilaan kaulan lihaksissa paljon kalkkiutuneita trikiinejä. (Forsius 2000.)

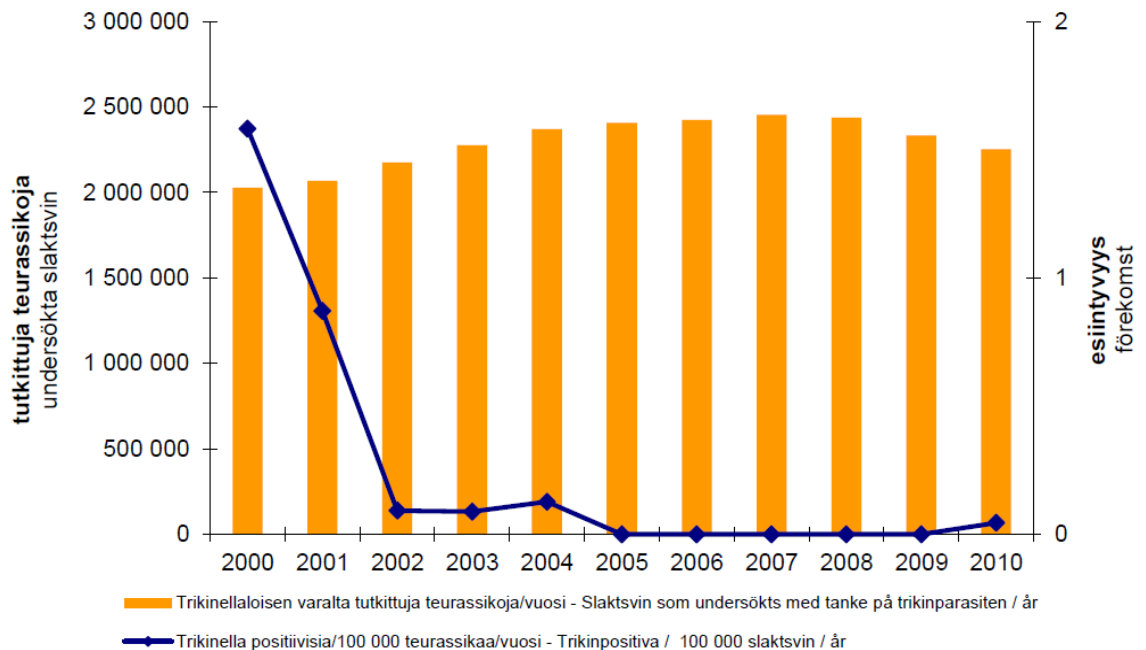
Trikiinejä löydettiin myös sioista ensimmäisen kerran vuonna 1846, joten tästä pääteltiin, että trikiinit tulivat ihmisiin sianlihasta. Trikiinin kaikki kehitysvaiheet selvitti saksalainen Gustav Herbst vuonna 1850 ja kymmenen vuotta myöhemmin taudin luokitteli vaaralliseksi Friedrich Albert Zenker, kun eräässä kylässä ilmaantui useita samanlaisia sairastumisia. Kyseessä oli ensimmäinen trikinoosiepidemia. (Forsius 2000.)

Kauan luultiin, että siat voivat saada tartunnan trikinoosia sairastavien ihmisten ripuliulosteista. Vuonna 1888 yhdysvaltalainen Mark osoitti, että sikojen tartunnan syynä olivat melkein aina trikiinipitoinen jäteruoka. Tutkimukset osoittivat myös, että viljaa ja keitettyä jäteruokaa käyttävissä sikaloissa ei esiintynyt trikiinitautia. Trikiini sai nykyisen nimensä vuonna 1895. Suomessa kotimaisesta lihasta todettiin ensimmäisen kerran trikiiniä vasta vuonna 1954. (Oivanen 2004; Forsius 2000)

2.4 Trikiinin esiintyvyys Suomessa

Lihantarkastuslaki tuli voimaan vuonna 1923, mutta sian lihan trikiinitutkimukset on aloitettu Suomessa jo vuonna 1867. Tuolloin ei kotimaisesta sian lihasta trikiiniä löydetty, mutta esimerkiksi Yhdysvalloista tuodusta siasta sitä todettiin useaan otteeseen vuosina 1900–1909. Ensimmäinen kotimaisesta sian lihasta tehty trikiinilöydös vuonna 1954 johtui sikalan rottien suuresta määrästä. Vuosien 1954 ja 1960 välisenä aikana todettiin maanlaajuisesti 16 trikiiniposiitivista sikaa. Ennen 1980-lukua trikiinitartunnat olivatkin harvinaisia, kunnes positiivisten sikojen lukumäärä alkoi äkkiä kasvaa. Syy positiivisten sikojen määrän kasvuun uskotaan ainakin osaksi olevan herkemmän tutkimusmenetelmän (digestiomenetelmä) käyttöönotossa. (Oivanen 2005.)

Trikiinitartuntoja todettiin 1990-luvulla muutamalla sikatilalla vuosittain. Vuosien 2000–2010 trikiiniloisen tartuttamien sikojen määrä oli yhteensä enää 58. Seuraavan kuvaajan mukaan (Kuvio 2) trikiiniposiitivisten teurassikojen määrä onkin laskenut vuoden 2000 jälkeen. (Zoonoosikeskus. Trikinelloosi, [viitattu 2.4.2012].)



Kuvio 2. Trikiiniloisen esiintyvyyden seuranta 2000-luvulla teurassioissa. (Zoonosikeskus. Trikinellaloisen esiintyvyyden seuranta 2000-luvulla teurassioissa, [viitattu 2.4.2012].)

Muutoksen oletetaan johtuvan sikatalouden rakennemuutoksesta sekä teurasjätteen ja muiden rehujen kuumennuksesta ennen päätymistä sikojen rehuksi. Rehusäiliöitä on tiivistetty, jolla on estetty rottien pääsy niihin. Sikalahygieniaa on parannettu, jätehuoltoa kunnostettu ja tunkioista on luovuttu. (Oivanen 2004; Zoonosikeskus Trikinelloosi, [viitattu 2.4.2012].)

Muiden eläinten osalta esimerkiksi teurashevosesta ei ole koskaan löydetty trikiiniä Suomessa. Luonnonvaraisilla eläimillä ne kuitenkin ovat yleisempiä. Trikiinitartuntoja on todettu tarhatuissa ja luonnonvaraisissa villisioissa sekä karhuissa. Trikiiniloisen varalta tutkitaan muutama sata villisikaa per vuosi ja niistä on todettu 0–5 trikiinitartuntaa. Karhuja tutkitaan vuosittain 43 yksilöä. Muita luonnonvaraisia trikiinitartuntojen varalta tutkittavia eläimiä ovat mm. ilves, susi, supikoira ja kettu, joilla esiintyvyys on korkea. Vuodesta 2007 alkaen on tutkittu myös hylkeitä, joista ensimmäinen trikiinilöydös tehtiin vuonna 2010. Taulukkoon (Taulukko 2) on listattu tiettyjen luonnonvaraisten eläinten trikiinitutkimukset. (Zoonosikeskus Trikinelloosi, [viitattu 2.4.2012].)

Taulukko 2. Luonnonvaraisten eläinten trikiinitutkimukset vuosina 2000 – 2010. (Zoonosikeskus. Luonnonvaraisten eläinten Trichinella spp. tutkimukset 2000 – 2010, [viitattu 3.4.2012].)

<i>Eläinlaji</i> <i>Djurart</i>	tutkittuja yksilöitä undersökta individer	positiivisten osuus (%) andelen positiva (%)
Ilves / Lo	1147	44,5
Susi / Varg	291	34,0
Supikoira / Mårdhund	1927	29,8
Kettu / Räv	2333	20,6
Näätäeläin / Mård	299	11,7
Rotta / Råtta	74	8,1
Karhu / Björn	709	7,5
Villisika / Vildsvin	74	6,8

Viimeisimmät trikiinitartunnat ihmisellä Suomessa on todettu viimeksi vuonna 1967 Korkeasaaren eläinpuiston työntekijällä ja vuonna 1977 Sodankylässä kolmella karhunmetsästäjällä. Eläinpuiston työntekijä sai tartunnan puistossa kasvatetusta ja teurastetusta villisiasta. Sodankylän tapauksessa sairastuneet saivat tartunsa karhun lihasta. Ihmisellä trikiinitartunta on siis varsin harvinainen, Suomessa rekisteröityjä tapauksia on kaiken kaikkiaan 8 kappaletta. (Oivanen 2005.)

Trikiinitartunnan todennäköisyyttä voidaan minimoida kuumentamalla liha kauttaaltaan + 70 asteeseen, mikäli on epäilyksiä lihan laadusta. Kuumennus tappaa kaikki trikiinilajit, mutta pakastamista ei tule käyttää keinona estää trikiinitartuntaa. Pakastamista voidaan käyttää sian lihan kohdalla, mutta esimerkiksi suomalaisissa riistaeläimissä on helposti pakkasta kestäviä trikiinilajeja. (Evira 2012.)

2.5 Luomusika trikiininäkökulmasta

Luomu on yhä enenevissä määrin trendikästä. Se on eettisesti tietoisien ihmisten valinta. Toisille se on myös makuasia, esimerkiksi luomuna kasvatettu sika tuntuu myös maistuvan paremmalta, kuin ”tehotuotettu” sika. Tästä ajankohtaisesta ja luultavimmin tulevasta tulevaisuuden suuntauksesta voidaan vetää myös trikiininäkökulma.

Sian luomutuotanto asettaa haasteita triikiinin kontrolloinnin kannalta. Luomutuotannon haasteeksi triikiininäkökulmasta voi muodostua luomusian pidempi elinikä. Kun tavanomaisesti tuotettu sika teurastetaan 4,5 kuukauden ikäisenä, niin vastaavasti luomuna tuotettu sika teurastetaan 6,5–8 kuukauden ikäisenä. Voidaan olettaa, että lyhyemmän ajan elänyt sika ei välttämättä ehdi saada triikiinitartuntaa. Toiseksi haasteeksi nousee se, että luomuna kasvatettu sika elää väljemmissä tiloissa ja saa ulkoilla. Ulkona ne ovat suoraan kosketuksissa luonnon kanssa eli esimerkiksi rotilla on mahdollisuus joutua sian ravinnoksi helpommin kuin eristetyissä sisätiloissa. (Kivinen 2003; Oivanen 2005; Ruokatieto Perustietoa sioista, [viitattu 3.4.2012].)

Luomusika tai ei, se joka tapauksessa tutkitaan, joten sinänsä ei ole syytä huolestua, vaikka luomusika maistuisikin. Luomun tuottajille se on kuitenkin maininnan arvoinen haaste, joten tässäkään kohtaa luomusian arvokkaampaa kilohintaa ei tarvinne ihmetellä.

3 TRIKIINITUTKIMUS

3.1 Tutkimustilat ja -henkilöt

Maa- ja metsätalousministeriö on säätänyt asetuksen trikiinitutkimuksesta. Trikiinitutkimustilojen osalta tilaa tulee olla riittävästi niin, että sen yhteyteen mahtuu tila tutkimuksessa tarvittavien välineiden ja aineiden säilyttämistä ja laitteiden pesemistä varten. Jätteiden keräily- ja säilytysastioille on oltava myös asianmukainen tila. (A 4/EEO/2002.)

Suolahapon ja pepsiinin takia tulee olla vetokaappi tai muu tuuletettava tila. Laitteiden melu ei saa häiritä kohtuuttomasti tutkimustiloissa tai niiden läheisyydessä työskenteleviä. (A 4/EEO/2002.)

Evira hyväksyy trikiinitutkimuksia tekevän laboratorion. Trikiinitutkimuksessa vastuu on suuri, joten laboratoriossa trikiinitutkimuksia saa tehdä henkilö, joka on osallistunut trikiinitutkimuksia tekeville henkilöille järjestettävään koulutukseen. Koulutus koostuu käytännön harjoittelusta, joka kestää 10 työpäivää. Harjoittelussa perehdytään näytteiden ottamiseen ja trikiinitutkimusmenetelmiin. Harjoittelusta saadaan tarkastuseläinlääkärin allekirjoittama todistus, joka on vaatimuksena Eviran järjestämälle trikiinikurssille. Kurssilla järjestetään kirjallinen kuulustelu, joka on suoritettava hyväksytysti. (A 4/EEO/2002.)

3.2 Tutkimusten näytteenotto

Näytemäärä poikkeaa hieman eläimestä riippuen. Kun kyseessä on sian trikiinitutkimus, on yhdestä siasta otettavan näytteen paino vähintään 1 gramma. Hevosesta otettava näyte on 5 grammaa ja muilla eläimillä 10 grammaa.

Seuraavassa taulukossa (Taulukko 3) on tehty yhteenveto Maa- ja metsätalousministeriön asetuksen 4/EEO/2002 mukaisista lihasnäytevaatimuksista. Sarakkeessa ”Näytepala ruhosta” sulkujen sisällä olevat ruhon osat on tarkoitettu tapauksiin, joissa varsinaista ruhon osaa ei ole saatavilla.

Taulukko 3. Yhteenvetotaulukko trikiinitutkimuksen näytteenotosta. (A 4/EEO/2002.)

Eläin	Näytteen paino	Näytepala ruhosta	Maksimi-näytemäärä tutkimuksessa
Sika	1 g	Munuaistappi. (Pallean kylki- tai rintaosa tai kieli-, poski- tai vatsalihaksesta)	100 kpl
Hevonen ja muut kavioeläimet	5 g	Kieli- tai poskilihas. (Kaksi 10 g lihasnäytettä, toinen poskilihaksesta, toinen jänneosien yhtymäkohdasta)	20 kpl
Muut eläimet	10 g	Kaksi 10 g lihasnäytettä, toinen poskilihaksesta, toinen munuaistapista. (Kaksi 10 g palasta pallean kylki- tai rintaosista tai kieli-, poski- tai vatsalihaksesta.)	10 kpl

3.3 Tutkimusmenetelmät

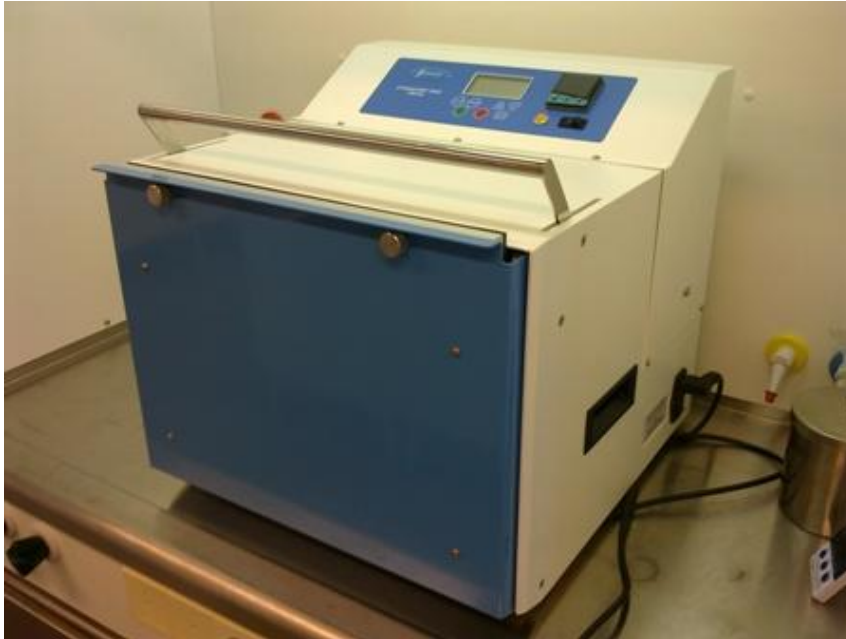
Trikiinitutkimusmenetelmiä on kolme. Vuonna 1982 otettiin käyttöön digestiomenetelmä (Oivanen 2004). Menetelmä voidaan toteuttaa kahdella tavalla. Ensimmäisenä mainittakoon Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossakin

käyttöön tuleva stomacher-digestiomenetelmä. Menetelmästä kerrotaan tarkemmin kohdassa 3.3.1. Toista tapaa kutsutaan magneettisekoitin-digestiomenetelmäksi, joka periaatteessa on sama menetelmä kuin stomacher-digestiomenetelmä, mutta käytännön laitteet poikkeavat hieman toisistaan. Tästä menetelmästä kerrotaan kohdassa 3.3.2. Magneettisekoitin-digestiomenetelmää pidetään trikiinitutkimusten perusmenetelmänä, jonka vaihtoehtona on stomacher-digestiomenetelmä.

Kolmantena menetelmänä on ollut puristus- eli kompressiomenetelmä, joka kuitenkin on lähes hylätty tehottomuutensa takia. Sillä saadaan nimittäin tutkittua kerrallaan vähemmän eläimiä kuin digestiomenetelmissä. Menetelmää saatetaan kuitenkin käyttää, mutta sen negatiivinen tulos tulee varmistaa digestiomenetelmällä. Puristus- eli kompressiomenetelmästä kerrotaan tarkemmin kohdassa 3.3.3.

3.3.1 Stomacher-digestiomenetelmä

Ensimmäiseksi käsitellään näytteet. Näytteet punnitaan eläimestä riippuen oikean kokoisiksi paloiksi. Näytepalat pyritään punnitsemaan niin, ettei niissä ole jäniteitä tai rasvaa, jotka sulavat huonosti stomacherissa. Stomacheriin tarkoitettuja pusseja laitetaan kaksi päällekkäin näytepussin puhkeamisen varalta ja siten suuremman sotkun välttämiseksi. Täydessä sadan eläimen tutkimuksessa stomacher-pussiin laitetaan näytteiden lisäksi noin 41-asteista vettä 1,5 litraa ja 17,5-prosenttista suolahappoa 25 millilitraa sekä 6 grammaa pepsiiniä. Stomacher käynnistetään 25 minuutin ajaksi, missä lämpötila on säädetty 41 asteeseen. Reagensseilla, lämmöllä ja stomacherin tuottamalla homogeenointiliikkeellä saadaan aikaan mahalaukkumaiset olosuhteet niin, että lihasnäytteet sulavat ja trikiinin toukka voi vapautua sidekudoskapselistaan. Seuraavassa on kuva stomacherista (Kuvio 3). (A 4/EEO/2002; Oivanen 2002)



Kuvio 3. Stomacher.

Stomacher-käsittelyn aikana punnitaan isoon dekanterilasiin jäämurskaa, jonne stomacherpussin sisältö kaadetaan suppilon läpi, jossa on siivilä. Jään tehtävänä on saattaa mahdolliset trikiinitoukat shokkiin, jonka seurauksena ne kiertyvät spiraalille ja ne ovat helpommin tunnistettavissa mikroskoopilla tutkittaessa. Stomacher-pussi huuhdellaan vielä 100 millilitralla vettä, joka kaadetaan niin ikään siivilän lävitse. Jään sulettua liuoksen lämpötila on laskenut noin 21–23 asteeseen ja liuos kaadetaan erotussuppiloon, jonka telineeseen on kytketty täristin (Kuvio 4). Erotussuppiloa täristetään kevyesti 30 minuutin ajan täristimen ollessa vuorotellen käynnissä ja pysähtyneenä. Tänä aikana mahdolliset trikiinitoukat painuvat erotussuppilon pohjalle. (A 4/EEO/2002; Oivanen 2002)

Täristyksen aikana voidaan punnita siivilä, josta selvitetään sulamisjäännös. Se edellyttää, että siivilä on punnittu myös puhtaana vedellä kostutettuna. Sulamisjäännös ei sikoja tutkittaessa saa ylittää 3 %:a näyte-erän painosta. Muilla eläimillä sulamisjäännös saa olla hieman korkeampi. (A 4/EEO/2002.)



Kuvio 4. Erotussuppilo kytkettynä telineeseen, jonka alla tärustinlaitteisto ja täristimen vieressä täryttämisen ajastin.

Täristyksen jälkeen erotussuppilosta lasketaan 60 millilitraa sakkaa mittalasiin ja sakan annetaan laskeutua mittalasissa 10 minuutin ajan. Jos mittalasiin laskettu liuos on sameaa vielä kirkastumisajan jälkeenkin, mittalasista imetään ruiskulla liuosta pois niin, että jäljelle jää 15 millilitraa. Tämän jälkeen lisätään 30 millilitraa vettä ja sakan annetaan laskeutua jälleen 10 minuuttia. Kun liuos on niin kirkasta, että sen läpi näkee lukea tekstiä, pinnalta imetään jälleen nestettä pois niin, että mittalasiin jää noin 15 millilitraa. Tämä kaadetaan yhteen tai kahteen petrimaljaan. Mittalasi huuhdellaan vielä 10 millilitralla vettä ja huuhte kaadetaan petrimaljaan tai maljoille. Petrimaljat tutkitaan stereomikroskoopilla ja mikäli näyte sisältää trikiinejä, mikroskoopin näkymässä on spiraalille kiertyneitä trikiinitoukkia. (A 4/EEO/2002; Oivanen 2002)

3.3.2 Magneettisekoitin-digestiomenetelmä

Magneettisekoitin-digestiomenetelmässä näytteet hienonnetaan tasaiseksi massaksi. Olennaisena välineenä käytettävä magneettisekoittimen lämpölevy lämmitetään 45 asteeseen. Lisäksi otetaan 3 litran lasimalja, jonka pohjalle laitetaan magneettisekoitinsauva. Näytemassa kaavitaan tarkasti sekoitusmaljasta, kannesta ja terästä tähän lasimaljaan. Massan päälle sirotellaan 10 g pepsiiniä ja kaadetaan 2 litraa vettä, josta osalla kuitenkin huuhdellaan sekoittimen terä, malja, kansi ja kaavin. Veden lämpötila on 45 astetta. Suolahappoa (pitoisuus 25 %) lisätään 16 millilitraa. Lasimalja kääritään alumiinifolioon ja asetetaan lämpölevylle. Sekoitin käynnistetään, ja laitteen nopeus säädetään sellaiseksi, että seoksen keskelle syntyy syvä pyörre seoksen roiskumatta. Seokseen upotetaan lämpömittari niin, että sen mittapää jää 8–10 cm:n syvyyteen. Sekoitusta jatketaan 30 minuutin ajan, tarvittaessa kauemmin. (A 4/EEO/2002; Oivanen 2002)

Lämpö kytketään pois 30 minuuttia sekoituksen aloituksesta ja lisätään noin 400 grammaa jäämurskaa, minkä seurauksena mahdolliset trikiinitoukat joutuvat shokkiin ja kiertyvät spiraalille. Sekoitus lopetetaan kun jäät ovat sulaneet. Seos kaadetaan muovisuppilon avulla siivilän lävitse erotussuppiloon ja lasimalja, siivilä ja magneettisekoitin myös huuhdellaan 100 millilitralla kylmää vettä. Seoksen annetaan seistä erotussuppilossa 30 minuutin ajan täristimen ollessa vuorotellen käynnissä ja pysähtyneenä. Täristyksen aikana voidaan punnita siivilä ja laskea sulamisjäännös. (A 4/EEO/2002; Oivanen 2002)

Täristyksen jälkeen erotussuppilosta lasketaan noin 60 millilitraa sakkaa mittalasiin ja mittalasia seisotetaan 10 minuutin ajan. Seoksen ollessa sameaa, toimitaan samalla tavalla kuin stomacher-digestiomenetelmässä kohdassa 3.3.1. Kirkastetun näyteliuoksen käsittelyssä ja tutkimisessa toimitaan niin ikään kohdan 3.3.1 mukaisesti.

Kuten aikaisemmin jo todettiin, magneettisekoitin-digestiomenetelmä ei poikkea paljoa stomacher-digestiomenetelmästä. Periaate, näytemäärät ja tutkimuksessa käytettävät reagenssit ovat samoja, kuten ovat myös erotussuppilovaihe ja

mittalasin seisotusvaihe. Loppuvaiheessa näyte mikroskopoidaan niin ikään stereomikroskoopilla.

3.3.3 Puristus- eli kompressiomenetelmä

Kompressiomenetelmää voidaan käyttää trikiiniposiitivisten yksilöiden etsinnässä vain siten, että negatiiviset tutkimustulokset varmistetaan uudestaan negatiivisiksi digestiomenetelmällä. Kompressiomenetelmässäkin siasta näyte otetaan munuaistapista, mutta jokaisesta ruhosta otetaan kaksi näytettä. Muista eläimistä otetaan myös kaksi näytettä, toinen poskilihaksesta ja toinen munuaistapeista. Olennaisimpina välineinä menetelmässä käytetään trikinoskooppia tai mikroskooppia sekä puristuslaseja eli kahta lasilevyä, jotka voidaan kiristää vastakkain ruuvien avulla ja joista toinen on viivoin jaettu yhtä suuriin ruutuihin. (A 4/EEO/2002.)

Jos lihasnäytteet on saatu molemmista munuaistapeista, leikataan saksilla niistä molemmista seitsemän kauranjyvän kokoista palasta, jotka painavat yhteensä 0,2–0,3 g. Leikatut palaset asetetaan omiin ruutuihinsa puristuslasin päälle ja lasit kiristetään toisiaan vasten. Lihasnäytteiden on oltava niin ohuita, että kun ne puristetaan lasilevyjen väliin, niiden lävitse voidaan lukea tekstiä. Trikinoskooppi on kuin pieni koppi, jonka takaseinään heijastetaan puristuslasien näkymä piirtoheittimen tapaisesti. Puristuslasit voidaan tutkia myös mikroskoopilla. Mahdolliset trikiinitoukat erottuvat lihakseen koteloituneena. (A 4/EEO/2002.)

3.4 Tutkimus digestiomenetelmällä vajaissa erissä

Näytemäärä voi poiketa 100 grammasta. Tällöin digestiomenetelmissä on sallittua tutkia 1–15 kpl 1 gramman näytettä lisättynä edelliseen 100 gramman näyte-erään ilman, että veden, suolahapon tai pepsiinin määrää täytyy muuttaa. Alle 100 gramman näyte-erät voidaan tutkia myös siten, että tutkittavaa näytettä täydennetään 100 grammaksi muulla lihalla, josta tiedetään, ettei se sisällä trikiinejä. (A 4/EEO/2002.)

Alle 100 gramman näyte-erät voidaan tutkia myös niin, ettei näyte-erää tarvitse täydentää 100 grammaan. Seuraavassa on esitelty alle 100 gramman näyte-erien tutkiminen stomacher- ja magneettisekoitin-digestiomenetelmissä.

3.4.1 Stomacher-digestiomenetelmä alle 100 gramman näyte-erissä

Stomacher-digestiomenetelmässä alle 100 g näyte-erä tutkitaan niin, että otetaan lasimalja, johon kaadetaan 1,5 l vettä ja 17,5 % suolahappoa 25 ml. Liuokseen lisätään 6 g pepsiiniä ja sekoitetaan. Valmistetaan siis sama seos samoilla määrillä, kuin tutkittaisiin 100 gramman näyte-erä. (A 4/EEO/2002.)

Seoksen lämpötilan tulee olla noin 41 °C. Tätä liuosta käytetään 15 ml kutakin 1 g:n lihasnäytettä kohti, joten esimerkiksi 20 lihasnäytettä kohden liuosta tarvitaan 300 ml (20 x 15 ml). Liuos kaadetaan ensin sisempään muovipussiin, johon lihasnäytteet lisätään. Ulompaan muovipussiin kaadetaan 41-asteista vettä niin paljon, että pussien yhteiseksi nestesisällöksi saadaan 1,5 l. Tutkimus jatketaan loppuun kohdassa 3.3.1 kuvatulla tavalla. (A 4/EEO/2002.)

3.4.2 Magneettisekoitin-digestiomenetelmä alle 100 gramman näyte-erissä

Magneettisekoitin-digestiomenetelmässä alle 100 g näyte-erä tutkitaan puolestaan niin, että lasimaljaan kaadetaan 2 litraa vettä ja 25-prosenttista suolahappoa 16 ml. Vesi ja suolahappo sekoitetaan keskenään ja liuokseen lisätään 10 g pepsiiniä, jonka jälkeen sekoitetaan. Lämpötilan tulee olla $44,5 \pm 1,0$ °C. (A 4/EEO/2002.)

Valmistettua liuosta tarvitaan 20 ml kutakin yhden gramman painoista lihasnäytettä kohti. Näytepalat hienonnetaan, kuten normaalistikin ja näytemassa tyhjennetään tarkasti lasimaljaan, jossa on myös magneettisekoitinsauva. Tämän jälkeen tähän lasimaljaan kaadetaan tarvittava määrä liuosta. Osalla liuosta huuhdellaan hienontajan malja, kansi ja terät. Tutkimusta jatketaan, kuten kohdassa 3.3.2 on kuvattu. (A 4/EEO/2002.)

3.5 Toiminta trikiiniposiitivisten näytteiden kohdalla

Stomacher- tai magneettisekoitin-digestiomenetelmällä tutkituista eläimistä löytyessä trikiiniä ei vielä tiedetä tarkalleen, minkä eläimen ruhosta sitä on löytynyt. Tällöin on tehtävä uusi tutkimus, jossa jokaisesta positiivisen tuloksen antaneen erän eläimestä otetaan 20 gramman näyte ja viiden eläimen näytteet yhdistetään. Kun on selvitetty, mikä tai mitkä viiden näytteen eristä ovat positiiviset, otetaan näiden erien eläimistä uudet 20 gramman näytteet ja kukin tutkitaan yksitellen. Näytteen tutkimiseen käytetään käytössä olevaa digestiomenetelmää. (A 4/EEO/2002.)

Positiivisen eläimen/eläimien löydyttyä tulos lähetetään varmistettavaksi Eviraan. Tutkimusliuos laimennetaan, jotta trikiinitoukat eivät liukenisi näkymättömiin kuljetuksen aikana. Petrimaljan sisältö kaadetaan 100 ml mittalasiin ja petrimalja huuhdellaan. Myös huuhte kaadetaan mittalasiin. Mittalasiin lisätään vettä kunnes sisältö on 100 ml. Sakan annetaan laskeutua 20 minuutin ajan, jonka jälkeen pinnalle muodostunutta kirkasta nestettä poistetaan niin paljon, että jäljelle jää 15–20 ml liuosta. Tämä kaadetaan kierrekorkilliseen näytepulloon, joka lähetetään Eviraan. (A 38/EEO/2006.)

Eviraan lähetetään lihasnäytteet kaikista niistä eläimistä, joista positiivinen tulos on saatu. Näytteiden tulee olla vähintään 20 gramman painoisia. Näytteet on lähetettävä mahdollisimman pian ja ne on säilytettävä jääkaapissa, mutta niitä ei saa pakastaa. (A 38/EEO/2006.)

Infektoitunut ruho ja muut eläimen osat hylätään. Hylkääminen tehdään jo ensimmäisen laboratoriotutkimuksen jälkeen. Ruho ja sivutuotteet ovat suuririskistä eläinjätettä. Suuririskinen eläinjäte on käsiteltävä eläinjätteen polttolaitoksessa tai suuririskisen eläinjätteen käsittelylaitoksessa. (A 1022/2000; A 4/EEO/2002)

3.6 Välineiden puhdistus ja laboratorion kirjanpito

Päivän trikiinitutkimusten jälkeen käytetyt välineet, kuten erotussuppilo ja siivilä pestään. Myös tutkimuskertojen välissä välineet on hyvä huuhdella. Jos tutkimuksissa on löydetty trikiinejä, näyteliuos tulee kiehauttaa ennen sen kaatamista viemäriin. Samoin kaikki välineet, jotka ovat olleet kosketuksissa liuotusliemen kanssa, huuhdellaan ja huuhteluvesi keitetään. (A 38/EEO/2006.)

Laboratorion tulee pitää tarkkaa kirjanpitoa trikiinitutkimuksiin liittyen. Kirjaa on pidettävä ainakin tutkittavista näytteistä ja tutkimustuloksista, käytetyistä tutkimusmenetelmistä, pepsiniin hankinnasta, näytteiden punnituksista, punnitustuloksista ja sulamisjäännöksistä sekä tutkimuksen eri vaiheista tehneistä henkilöistä, tutkimuksen ajankohdista ja trikiinitutkimuksen tekemiseen pätevistä henkilöistä. (A 38/EEO/2006; A 4/EEO/2002)

4 TRIKIINITUTKIMUKSEN KÄYNNISTÄMINEN SEINÄJOEN ELINTARVIKE- JA YMPÄRISTÖLABORATORIOSSA

Tämän opinnäytetyön tavoitteena oli rakentaa trikiinitutkimuksia palveleva kokonaisuus Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorioon. Tutkimusten käynnistäminen vaati ainakin sen, että pääasiassa kolme seuraavaa seikkaa olivat lakisääteisesti kelvollisia: välineistö, henkilöstö ja laboratorio.

Välineistön hankkimisen lisäksi niille oli löydettävä asianmukainen paikka laboratoriossa. Trikiinitutkimukset ovat luonteeltaan hyvin vastuullisia, koska kyseessä on ihmisten terveys. Tästä syystä tutkimuksia suorittavien henkilöiden tulee pätevöittää itsensä käymällä trikiinikoulutus, jota Evira järjestää Oulussa. Lisäksi Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion tuli arvioittaa laboratorion käyttämä menetelmä Eviran määräämällä hakemusmenettelyllä. Näistä tutkimuksen käynnistämiseen liittyvistä pääkohdista kerrotaan tässä luvussa.

4.1 Välineistö

Tutkimusten aloittamista varten oli tilattu tarvittava välineistö. Niistä tärkeimpinä mainittakoon stomacher ja stereomikroskooppi, mutta tutkimukseen sisältyy myös paljon muita pienempiä välineitä. Trikiinitutkimus on mikrobiologista tutkimusta, joten trikiinitutkimuksen sijoittaminen tuntui luonnolliselta mikrobiologian osastolle. Laki vaatii, että stomacher sijoitetaan vetokaappiin tai muuhun tuuletettavaan tilaan, joten Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa stomacher sijoitettiin vetokaappiin ja siitä on kuva (Kuvio 5) seuraavalla sivulla.



Kuvio 5. Stomacher vetokaapissa.

Tutkimuksessa käytetään stomacherin lisäksi pienempää välineistöä. Erotussuppilo täristimiseen sijoitettiin vetokaapin vastakkaiselle työtasolle, josta se kuitenkin myöhemmin siirrettiin vetokaappiin (Kuvio 6). Trikiinitutkimuksen käyttöön varattiin myös oma suppilo ja siivilät sekä 3 litran dekantterilasi. Ne sijoitettiin vetokaapin alakaappiin, johon myös muu pienempi tutkimusvälineistö laitettiin. Pinsettejä, kirurginveitsiä, mittalaseja ja petrimaljoja sekä muita oheisvälineitä käytetään päivittäin laboratorion muissa tutkimuksissa, joten ne löytyvät niille jo vakiintuneilta paikoilta. Mikroskooppi asetettiin pöydälle, jolla jo ennestään on suoritettu mikroskopointia.



Kuvio 6. Erotussuppilo sijoitettuna vetokaappiin.

4.2 Henkilöstö

4.2.1 Trikiiniharjoittelu

Trikiiniharjoittelu on pääsyvaatimus trikiinikurssille. Trikiiniharjoittelu suoritettiin Atrian Nurmon sikateurastamolla. Suuri toistojen määrä päivän aikana Atrian sikateurastamolla takasi, että trikiinitutkimuksen omaksuminen kävi nopeasti. Atrian trikiinitutkimukset ovatkin suuremmassa mittakaavassa kuin Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorioon suunnitellut tutkimukset.

Näyte otettiin munuaistapista. Sisäelimet kulkivat hihnalla, joista jokaisesta näytteenottaja veti noin 1 gramman näytteen pihtien avulla. Näytteet kerättiin alustalle, jossa oli 100 ruutua. Tämä alusta vietiin näytteineen laboratorioon, jossa trikiinitutkimus suoritettiin stomacher-digestiomenetelmällä. Menetelmän jälkeen näyte tutkittiin stereomikroskoopilla.

Koko tutkimuksen ajan oli tiedettävä, mikä näyte-erä oli meneillään. Tämä onnistui numeroimalla prosessin kulun aikana käytettävät välineet vastaamaan näytenumeroa.

Stomacher-digestiomenetelmän kaikki vaiheet paitsi näytteen mikroskopointi olivat alusta asti harjoittelijankin tehtävissä. Mikroskopointiakin saatiin harjoitella, mutta tutkimustuloksen toteaminen kuului jo trikiinitutkijan pätevyyden suorittaneelle henkilölle. Mikroskopoinnissa harjoiteltiin lähinnä petrimaljan ruudukon hyväksikäyttöä. Ruudukko varmisti sen, että taatusti koko malja tuli käytyä läpi rivi riviltä. Trikiinitoukka ei liiku maljalla suuntaan ja toiseen, joten ei ole pelkoa siitä, että mahdollinen trikiinitoukka ”livahtaisi” jo tutkittuun petrimaljan kohtaan. Kiertymistä spiraalille ja auki tapahtuu kyllä, mikäli toukka on elävä.

Harjoittelun aikana ilmeni muutama ratkaistava asia. Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion tutkimusvälineistöön tuli hankkia vielä siivilä, jonka halkaisija on noin 11 cm ja reikäkoko 180 µm. Lisäksi oli ratkaistava, miten saatiin jäämurskaa niin, että tutkimuksen tehokkuus ei liiaksi kärsi. Jäämurskakone tuottaisi automaattisesti jäämurskaa. Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa jäämurskakoneen hankinnasta päätettiin luopua tutkimusten pienen mittakaavan vuoksi. Ensin päädyttiin itse jäiden murskaamiseen tehosekoittimen avulla, mutta sitten heräsi idea jäämurskapusseista. Kokeilut osoittivat, että kahden jäämurskapussin jäät painavat 100 näytteen erissä vaaditun 300–400 grammaa.

Tutkimusten aikana kaikista vaiheista pidettiin kirjaa. Kirjaa voidaan pitää sähköisesti tai paperiversiona. Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa kirjaa tullaan pitämään taulukko-ohjelmalla laaditulla paperiversiolla. Seuraavassa taulukossa (Taulukko 4) on esimerkki kirjanpitomallista. Kohtiin 'Veden,

suolahapon ja pepsiinin lisäys', 'Jään lisäys ja suodatus' sekä 'Mittalasiin siirto' merkitään kellonaika, jolloin kyseinen toimenpide on tehty. Kohta 'Tutkimus' tarkoittaa näytteen mikroskopointia ja sen kohdalle merkitään joko "todettiin" tai "ei todettu". Lyhenteen ID kohdalle merkitään kyseisen toimenpiteen tekijän nimikirjaimet. Lisäksi pidetään kirjaa pepsiinin ja suolahapon eränumeroista sekä tietenkin päivämääristä ja tutkittavasta eläimestä. Lainmukaisesta kirjanpidosta on selitetty kohdassa 3.8. Tutkimusten rutinoituminen ohjaa myöhemmin pidettävään kirjanpitomalliin.

Taulukko 4. Esimerkki kirjanpidosta.

Näyte- nro	Paino (g)	ID	Veden, suolahapon ja pepsiinin lisäys	ID	Jään lisäys ja suoda- tus	ID	Mitta- lasiin siirto	ID	Tutkimus	ID
111	100	js	10:00	js	10:25	js	10:55	js	ei todet.	js
222	102	js	11:00	js	11:25	js	11:55	js	ei todet.	js
...										

Trikiinitoukkia ei löydetty harjoittelun aikana, mikä ei ollut tavatonta. Teurassioista trikiinilöydöksiä ei juurikaan tehdä. Evira lähettääkin vuosittain positiivisen näytteen, jotta tiedetään, mitä ollaan ylipäänsä etsimässä. Eviran trikiinikurssilla tullaan myös tutkimaan trikiiniposiitiivisia näytteitä.

4.2.2 Trikiinitutkimuskurssi Oulun Eviralla

Oulun Evira on tällä hetkellä ainut taho, joka järjestää trikiinikursseja. Trikiinikurssit järjestetään kaksi kertaa vuodessa, joista toinen opinnäytetyön kannalta sopivaan aikaan 23.–24.3.2011.

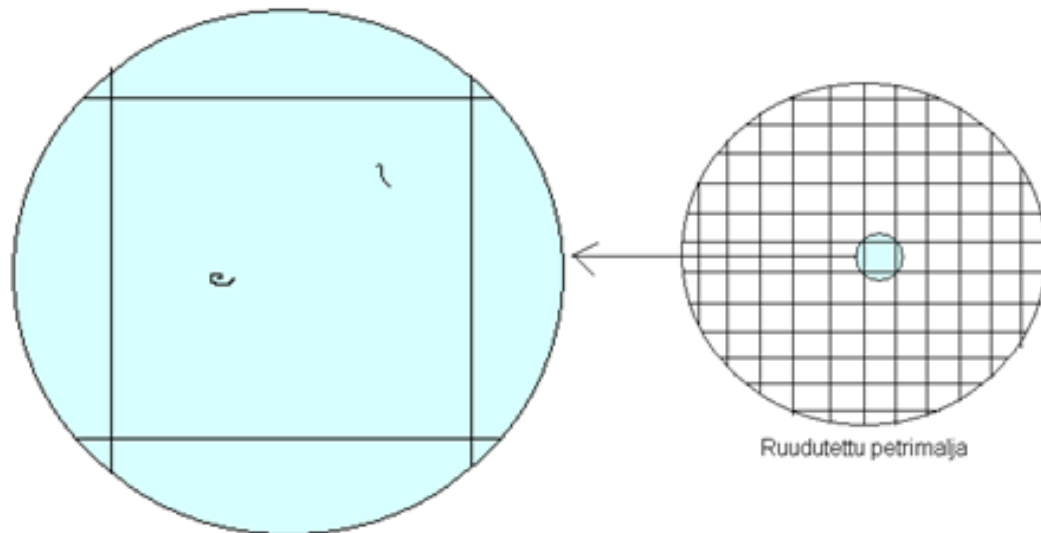
Triikiinikurssilla luennottiin triikiinistä ja triikiinitutkimusmenetelmistä. Kaikki menetelmät myös harjoiteltiin käytännössä. Lopuksi pidettiin kirjallinen kuulustelu, joka oli suoritettava hyväksytysti.

Kurssi aloitettiin kahvilla ja teoriaan perehtymisellä. Antti Oksanen Oulun Eviralta esitteli triikiiniä yleisesti, jonka jälkeen Riina Tolvanen Helsingin Eviralta esitteli kurssilaisille triikiinitutkimusta koskevaa lainsäädäntöä ja ohjeita. Parin tunnin teoriaosion jälkeen siirryttiin laboratorioihin, jossa toinen osa kurssilaisista tutustui magneettisekoitin-digestiomenetelmään ja toinen osa stomacher-digestiomenetelmään. Tutkimuksissa käytettiin triikiinipitoista lihaa, jotta opittaisiin, millaista eliötä tulee etsiä.

Kurssin toisena päivänä keskityttiin vain käytäntöön. Se osa kurssilaisista, joka oli päässyt tutustumaan magneettisekoitin-digestiomenetelmään edellisenä päivänä, pääsi tutustumaan stomacher-digestiomenetelmään ja päinvastoin. Puristus- eli kompressiomenetelmää ei harjoiteltu, koska nykyään sen käyttö on lähes lopetettu. Kurssilaisille kuitenkin esiteltiin triikiinoskooppi, johon triikiiniposiivisia lihanpaloja oli laitettu puristukseen. Lihaksesta saattoi erottaa vain juuri ja juuri koteloituneen triikiinin toukan.

Toisen päivän päätteeksi pidettiin kirjallinen kuulustelu. Kuulustelussa kysyttiin triikiinin biologiaa ja triikiinitutkimukseen liittyviä asioita. Kuulustelu koettiin yllättäväksi, mutta ei niinkään vaikeaksi.

Triikiinikurssin parhaimpana antina voidaan ehdottomasti pitää triikiinitoukan näkemistä, josta ennakkoon oli vääränlainen kuva. Ennen kurssia toukka muotoutui mielessä paljon suuremmaksi ja myös tummemmaksi. Mikroskoopilla tutkiessa tulee todella olla tarkkana varsinkin, jos toukkien määrä ei ole kovin suuri ja koska toukan koko on hyvin pieni. Tietysti suurennosta voidaan säätää, mutta liian suuri suurennos mitätöi petrimaljan ruudut ja tutkimuksesta tulee tehotonta ja loppujen lopuksi epätarkkaa. Seuraavassa kuvassa (Kuvio 7) on havainnollistettu, miten ruudun tulee näkyä mikroskoopista katsoessa ja triikiinitoukan koko.



Kuvio 7. Havainnekuva mikroskoopin näkymästä ja ruudun asettumisesta näkymään.

4.3 Laboratorio

4.3.1 Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorion kelpoisuus trikiinitutkimuksiin

Trikiinitutkimukset tulee tehdä Eviran elintarvikelain (23/2006) nojalla hyväksymässä laboratoriossa, jolla on kirjallinen laatujärjestelmä. Ennen kuin laboratorio voi hakea hyväksyntää Evirasta, sen täytyy olla akkreditoitu tai arvioitu standardin ISO/IEC 17025 mukaisesti. FINAS on akkreditointipalvelu, joka suorittaa arvioinnin. Euroopan komissio on antanut teurastamoiden yhteydessä sijaitseville trikiinitutkimuksia suorittaville laboratorioille siirtymäaikaa akkreditoinnin hankkimiseen vuoden 2013 loppuun saakka. Tällöin laboratorioiden tulee kuitenkin olla Eviran hyväksymiä. (Evira 2011.)

Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorio on akkreditoitu laboratorio. Trikiinitutkimusmenetelmää ei sen sijaan ole luonnollisestikaan vielä akkreditoitu, sillä ensin tulee osallistua vertailututkimuksiin ja varsinaisten tutkimusten tekoon, jotta saadaan dokumentointia. Dokumentointien perusteella akkreditointi-toimielin tarkastaa tutkimustulosten luotettavuuden. (Evira 2011.)

4.3.2 Eviran arviointi trikiinitutkimusmenetelmälle

Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorio haki Eviran hyväksyntää trikiinitutkimusmenetelmälle arvioinnin kautta. Menetelmän akkreditointi siirtyi siis tuonnemmaksi, sillä sitä varten tarvitaan dokumentaatiota tutkimuksista. Eviralle täytettiin hakemus, jonka perusteella Evira hyväksyy laboratorion niin, että se pääsee akkreditointia varten tekemään tutkimuksia.

Hakemuksen liitteiksi tuli laittaa tutkimuksia tekevien henkilöiden todistukset trikiinikurssista, vertailumenetelmän raportti eli lyhyt selonteko Eviralta tilatun positiivisen näytteen tutkimisesta ja tuloksista sekä työohje, josta Evira voi varmistua, että laboratoriolle on käytössään oikea menetelmä. Hakemuksen käsittelyaika oli noin 2 kuukautta, jonka jälkeen laboratorio alkoi saada trikiinitutkimusnäytteitä.

5 TRIKIINITUTKIMUKSEN TEKO SEINÄJOEN ELINTARVIKE- JA YMPÄRISTÖLABORATORIOSSA

5.1 Näyte

Ennen ensimmäistä Oulun Eviran lähettämää trikiiniposiitivista näytteen tutkimista vietiin läpi testitutkimus, jossa testattiin laitteiden toimivuutta ja pyrittiin tunnistamaan mahdollisia ongelmakohtia. Näytteenä käytettiin laboratorioon aikaisemmin tullutta sian lihaa.

Ensimmäinen trikiinitutkimus Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa tehtiin Oulun Eviralta tilatulla positiivisella näytteellä. Positiivisen näytteen tekeminen on edellytys trikiinitutkimusten käynnistymisen etenemiselle. Tutkimuksesta laadittiin raportti, joka liitettiin Eviralle osoitettuun hakemukseen.

Eviralta lähetetyt positiiviset näytteet olivat kahdessa putkilossa, joista toisessa oli ilveksen lihaa ja toisessa ketun lihaa. Molempia oli arviolta noin 20 grammaa, joita varsinaiseen tutkimukseen käytettiin muutama gramma. Tutkimuserä täydennettiin 100 grammaksi sian lihalla.

5.2 Tutkimus vaihe vaiheelta kuvien kanssa

Stomacher ja vesihaude esilämmitettiin 41 asteeseen. Punnittiin trikiinivapaata sianlihaa 95 grammaa sekä trikiiniposiitivista kettua ja ilvestä niin, että lihojen yhteispainoksi saatiin 100 grammaa (Kuvio 8).

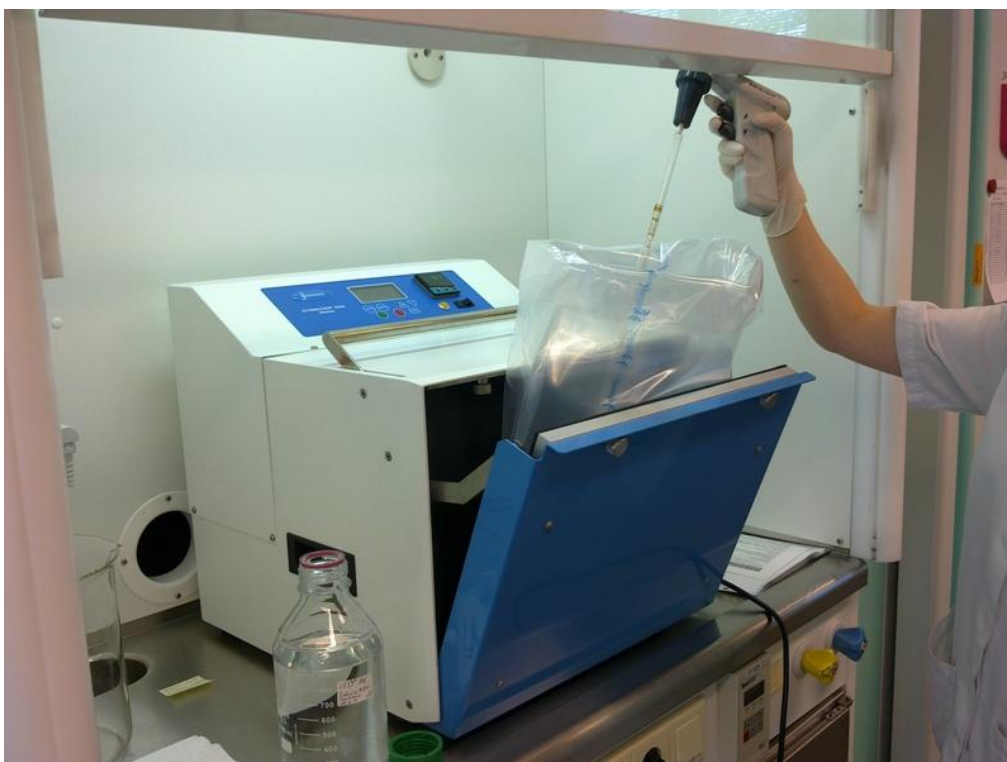


Kuvio 8. Näytteiden punnitus.

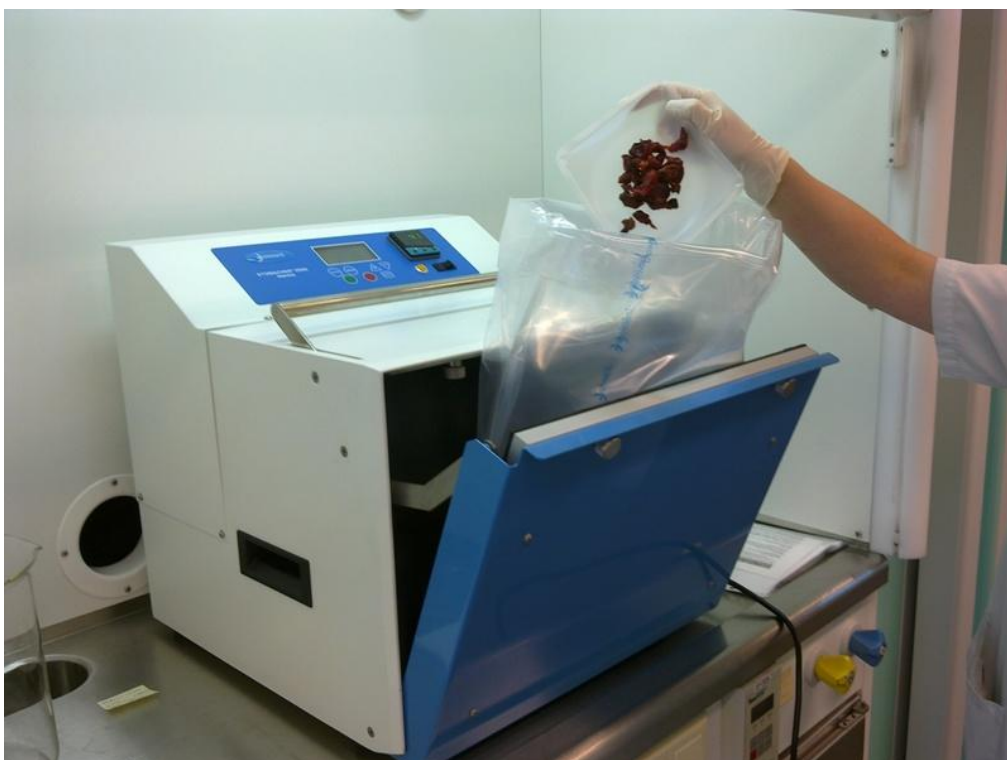
Punnittiin lisäksi pepsiiniä 6 grammaa (Kuvio 9). Laitettiin kaksi stomacher-pussia sisäkkäin ja mitattiin 1,5 litraa 41-asteista vettä hauteesta. Veteen lisättiin 25 millilitraa 17,5-prosenttista suolahappoa, punnitut lihat ja pepsiini (Kuviot 10, 11 ja 12).



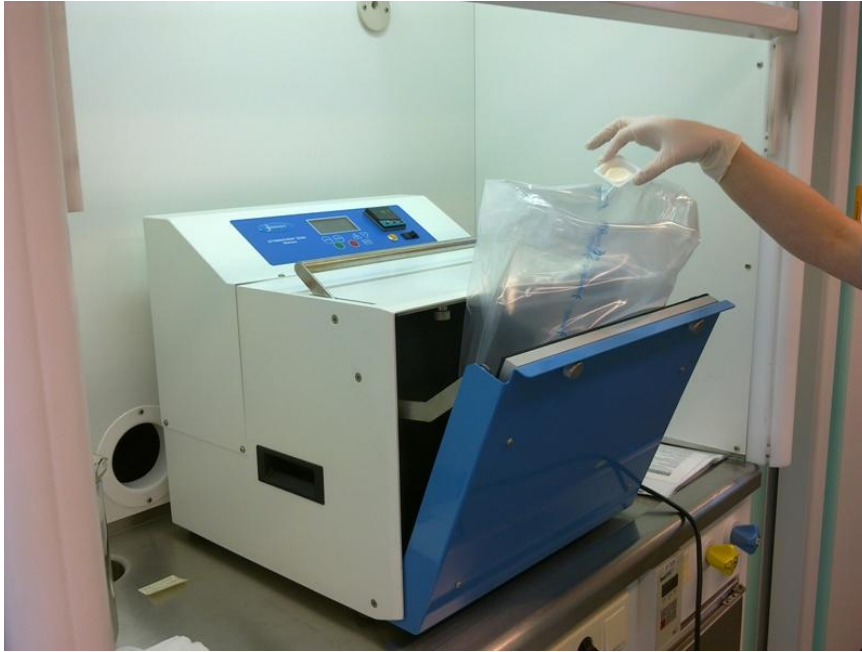
Kuvio 9. Pepsiinin punnitus.



Kuvio 10. Suolahapon lisääminen stomacher-pussiin.

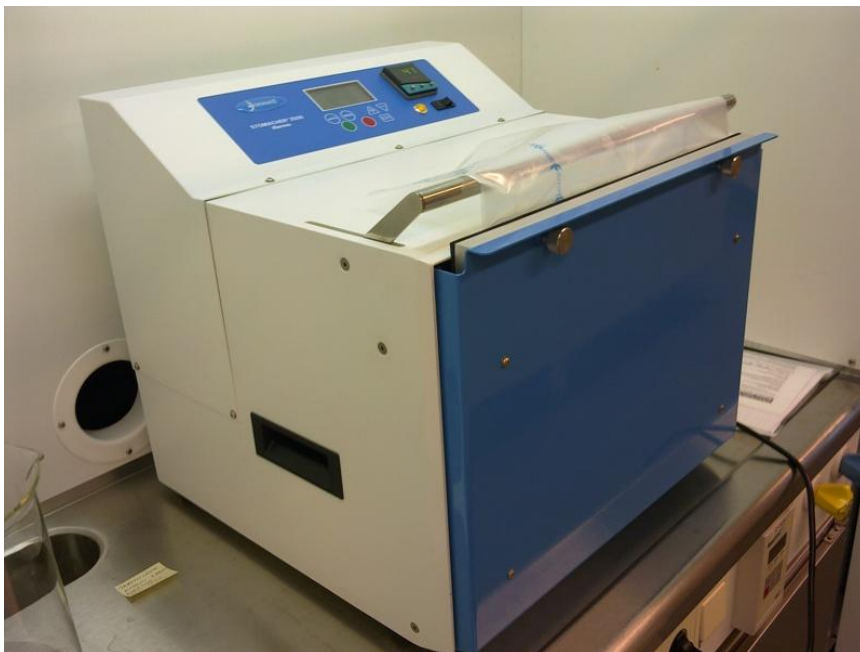


Kuvio 11. Lihasnäytteiden lisääminen stomacher-pussiin.



Kuvio 12. Pepsinin lisääminen stomacher-pussiin.

Stomacherin luukku suljettiin ja laite käynnistettiin 25 minuutin ajaksi (Kuvio 13). Stomacherin jälkeen pussien sisältö kaadettiin suppilon ja siivilän lävitse 2 litran dekantterilasiin, johon punnittiin 300–400 grammaa jäämursketta (Kuvio 14).



Kuvio 13. Stomacherin luukku suljettuna ja pussi sen sisällä.



Kuvio 14. Näyteliuoksen kaataminen siivilän ja suppilon läpi dekanterilasiin.

Varmistettiin, että jäät dekanterilasissa olivat sulaneet, minkä jälkeen dekanterilasien sisältö kaadettiin erotussuppiloon, jonka telineeseen kytkettiin täristin (Kuvio 15). Täristin täryttää puolen tunnin ajan minuutin täristäen ja minuutin täryttämättä, minkä seurauksena trikiinitoukat laskeutuvat suppilon pohjalle. (Kuvio 16).



Kuvio 15. Näyteliuoksen kaataminen erotussuppiloon.



Kuvio 16. Näyteliuoksen täryttäminen erotussuppilossa.

Täryttämisen jälkeen erotussuppilosta laskettiin mittalasiin 60 millilitraa, jonka annettiin seistä 10 minuuttia (Kuvio 17). Seisotuksen jälkeen liuos todettiin liian sameaksi, joten se laimennettiin niin, että pinnasta imettiin sen verran pois, että mittalasiin jäi 15 millilitraa näyteliuosta. Tähän lisättiin 30 millilitraa vettä, jota seisotettiin uudelleen 10 minuuttia, jonka jälkeen 30 millilitraa imettiin jälleen pois (Kuvio 18).



Kuvio 17. Näyteliuoksen laskeminen erotussuppilosta mittalasiin.



Kuvio 18. Näyteliuoksen imeminen ruiskulla.

Mittalasin pohjalle jäänyt näyteliuos kaadettiin petrimaljalle (Kuvio 19). Mittalasi huuhdeltiin 10 millilitralla vettä, joka kaadettiin myös petrimaljalle. Petrimalja mikroskopoititiin stereomikroskoopilla (Kuvio 20) ja siinä todettiin trikiinejä.



Kuvio 19. Kirkastetun näyteliuoksen kaataminen petrimaljalle.



Kuvio 20. Stereomikroskooppi.

Siivilän sulamisjäännös punnittiin ja laskettiin. Siivilä painoi vedellä kostutettuna 109,3 grammaa ja sakan kanssa 111,5 grammaa. Laskettiin lukemien erotus: $111,5 \text{ g} - 109,3 \text{ g} = 2,2 \text{ g}$. Saatu tulos jaettiin näytteen grammamäärällä: $2,2/100 = 0,022$. Sulamisjäännökseksi saatiin siis 2,2 %. Tämä on alle ylärajan, joka sioilla on 3 %, muilla eläimillä hieman enemmän. Sulamisjäännöksessä oli erotettavissa hieman jätteitä ja rasvaa.

5.3 Tulokset

Eviran näytteestä petrimaljalta löydettiin noin 70 trikiini-loismatoa, joten tutkimus onnistui. Tosin vain muutamat niistä olivat säilyneet elävinä. Elävät olivat väriltänsä tummempia ja kiertyivät spiraalille ja auki. Kuolleet puolestaan eivät liikkuneet ja ne olivat läpikuultavampia.

Alla olevassa taulukossa (Taulukko 5) on tehdyn trikiinitutkimuksen kirjanpito. Varsinaisten tutkimusten alkaessa pidetään kirjaa myös suolahapon ja pepsiinin eränumeroista sekä lämpötiloja tarkastetaan kalibroidulla mittarilla säännöllisesti ja ne kirjataan kirjanpitotaulukkoon.

Taulukko 5. Eviran positiivisen näytteen trikiinitutkimuksen kirjanpito.

Pvm	Näyte- nro	Paino (g)	Vesi, HCl, pepsiini (klo)	ID	Jää ja suodatus (klo)	ID	Mitta- lasiin (klo)	ID	Tutkimus	ID	Sulamis- jäännös
27.6.11	Evira, pos.	100,0	9:10	JS	9:35	JS	10:05	JS	Todettiin	JS	2,2 %

5.4 Huomioita trikiinitutkimuksen jälkeen

Tutkimuksessa havaittiin selkeistä työohjeista, trikiiniharjoittelusta ja -kurssista huolimatta, ettei tutkimus edennyt niin jouhevasti kuin saattoi odottaa. Tutkimuksessa tarvittavien välineiden sijoittelu ontui, sillä tavaroita piti haeskella eri puolelta laboratoriota. Punnitukseen tarvittava vaaka ja vesihaude eivät sijaitse trikiinitutkimuspisteessä, joten jonkin verran ylimääräistä vaivaa koettiin myös siinä mielessä.

Käytännössä oman vaa'an asentaminen trikiinityöpisteelle ei ole kannattavaa ennakoidussa tutkimusmittakaavassa. Lisäksi vaaka vaatii oman kivisen vaakapöydän tarkan punnitustuloksen takaamiseksi eikä pöydän hankkiminen ole näillä näkymin vaihtoehto. Vesihautteen siirtämistä trikiinitutkimuspisteelle harkittiin, mutta tulevaisuus näyttää, kannattaako se näytteiden määrään nähden, sillä haudetta tarvitaan myös laboratorion muihin tarkoituksiin.

Huomattavana huomiona ensimmäisen trikiinitutkimuksen jälkeen havaittiin, että astioiden ja muiden välineiden puhdistus oli yllättävän työläs ja aikaa vievä toimenpide, mikäli trikiinejä todetaan tulevaisuudessa. Materiaalina muovi asetti

omat haasteensa, sillä esimerkiksi käsin ruudutettujen petrimaljojen käyttö seuraavassa tutkimuksessa ei onnistu, koska trikiinejä löydettyä maljoja tulisi keittää puoli tuntia. Kokeilun tuloksena maljat kuitenkin vääntyivät kuumuudessa käyttökelvottomiksi. Muoviset suppilot, erotussuppilon hana ja korkki sekä ruisku kuitenkin kestivät käsittelyn.

Käytössä oli myös muovinen allas, joka asetettiin tavallisen lavuaarin päälle. Altaaseen laskettiin vettä ja lisättiin puhdistusainetta, johon tutkimuksen jälkeen laskettiin välineitä likoamaan. Välineiden keittämisen jälkeen myös tämä likoamisvesi keitettiin. Lopuksi keitettiin pelkästään vettä, jolla huuhdeltiin muovinen allas ja huuhteluvesi kiehautettiin uudelleen. Allas vietiin tämän jälkeen tavalliseen pesuun.

Likoamisen jälkeen kuumuutta kestävät lasiset ja metalliset osat autoklavoitiin, jonka jälkeen ne vielä pestiin pesukoneessa. Tiskipöytä, vaaka ja muut pinnat pyyhittiin huolellisesti 70 % etanolilla.

Pienen tutkimusmittakaavan vuoksi Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa näytemäärät ovat selvästi alle maksimimäärän, jolloin näytteiden yhteispaino on alle 100 grammaa. Reagenssien ja ajan säästämiseksi laadittiin alla oleva taulukko (Taulukko 6), josta saadaan suoraan katsottua veden, reagenssien ja jäämurskan määrät erissä, jotka ovat alle 100 grammaa. Täten ei ole tarpeen valmistaa kohdassa 3.4 kuvattua liuosta, jonka säilyvyydestä ei ole tietoa. Todellisuudessa taulukko on laadittu aina 100 grammaan asti, mutta suuren kokonsa vuoksi se on lyhennetty.

Taulukko 6. Veden, reagenssien ja jäämurskan määrät trikiinitutkimuksissa.

Näyte (g)	Sisempään pussiin			Jäämurska (g)	Vesi/ulompi (ml)
	Vesi (ml)	HCl 17,5 % (ml)	Pepsiini (g)		
1	15	0,3	0,1	3,0	1485
2	30	0,5	0,1	6,0	1470
3	45	0,8	0,2	9,0	1455
4	60	1,0	0,2	12,0	1440
5	75	1,3	0,3	15,0	1425
6	90	1,5	0,4	18,0	1410
7	105	1,8	0,4	21,0	1395
8	120	2,0	0,5	24,0	1380

9	135	2,3	0,5	27,0	1365
10	150	2,5	0,6	30,0	1350
11	165	2,8	0,7	33,0	1335
12	180	3,0	0,7	36,0	1320
13	195	3,3	0,8	39,0	1305
14	210	3,5	0,8	42,0	1290
15	225	3,8	0,9	45,0	1275
16	240	4,0	1,0	48,0	1260
17	255	4,3	1,0	51,0	1245
18	270	4,5	1,1	54,0	1230
jne.

Viimeisenä huomiona mainittakoon, että trikiinitutkimusta ei kannata tehdä alle 20-grammaisena mikäli mahdollista, sillä näytteet sulavat huonosti pienissä erissä. Siispä esimerkiksi 10 sikanäytteen kohdalla punnitaan jokaista sikaa 2 grammaa niin, että ainakin tuo 20 grammaa tulee täyteen.

6 YHTEENVETO

Trikiinillä on pitkä historia. Voidaan olettaa, että se on ollut aina olemassa niin kuin mikä tahansa elävä organismi maapallolla. Vasta keskiajalla on päästy sen aiheuttaman salaperäisen taudin jäljille. Trikiinitutkimusten nykyisen digestiomenetelmän käyttöönotto on tapahtunut kuitenkin vasta 1980-luvulla. Suomessa esimerkiksi teurassioissa trikiinin esiintyminen on lähes nolla-luokkaa, johon onkin päästy ehkäisevien toimenpiteiden ansiosta. Trikiiniä kuitenkin tavataan ja lakisääteisesti se on tutkittava.

Ennen valvonta-asetuksen (EY 882/2004) voimaantuloa tutkimukset tehtiin teurastamoiden kyljessä toimivissa laboratorioissa, joista se kuitenkin monista teurastamoista akkreditoinnin vaatimien kustannusten vuoksi on kannattanut ulkoistaa. Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorio oli täten valveilla ja päätti vastata kysyntään.

Trikiinitutkimus on menetelmänä hyvin ymmärrettävä: se perustuu ruoansulatusjärjestelmään. Trikiinitutkimusten pääpaino ei olekaan sen vaativuudessa vaan vastuullisuudessa. Vastuullisuudesta johtuen opinnäytetyössä esille nousseet suuret kokonaisuudet (välineistö, henkilöstö ja laboratorion kelpoisuus) on oltava kunnossa. Näiden asioiden oivaltaminen toi monia asioita vaatineeseen tutkimusmenetelmän käynnistämiseen sopivasti ymmärrystä.

Itse tutkimusten alkaessa Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratoriossa huomattiin, ettei menetelmän läpivienti ollutkaan niin sujuvaa huolellisista alkuvalmisteluista huolimatta. Menetelmää täytyi soveltaa laboratorion tarjoamissa puitteissa, kuitenkin lainsäädännön määräyksiä noudattaen. Laboratorion trikiinitutkimuksien rutinoituminen on kuitenkin käynnissä ja pätevyyttä ylläpidetään Eviran järjestämillä säännöllisillä vertailututkimuksilla sekä akkreditoinnilla.

Tämä opinnäytetyö oli toiminnallinen projekti, joten verrattuna tutkimuspohjaiseen projektiin syvällisten pohdintojen tai kehitysideoiden esittäminen ei ole relevanttia tässä kohtaa. Työstä voitiin lopputulemana todeta, että aihe antoi laajan katsauksen siihen, mitä uuden menetelmän käyttöönotto kohdeyrityksen kaltaisessa laboratoriossa kaikkineen vaatii.

LÄHTEET

A 1022/2000. Maa- ja metsätalousministeriön asetus eläinjätteen käsittelystä.

A 38/EEO/2006. Maa- ja metsätalousministeriön asetus lihintarkastuksesta.

A 4/EEO/2002. Maa- ja metsätalousministeriön asetus trikiinitutkimuksesta.

A-Z Guide to Parasitology. Tissue Dwelling Nematodes. [Verkkosivut]. [Viitattu 30.6.11]. Saatavana: <http://www.soton.ac.uk/~ceb/Diagnosis/Vol7.htm>

Evira. 2010. Trikinella. [Verkkosivut]. Elintarviketurvallisuusvirasto. [Viitattu 1.3.2011]. Saatavana: http://www.evira.fi/portal/fi/elaimet/elainten_terveys_ja_elaintaudit/elaintaudit/us_ealle_elainlajille_yhteiset_taudit/trikinelloosi/

Evira. 2012. Trichinella Spiralis. [Verkkosivut]. Elintarviketurvallisuusvirasto. [Viitattu 12.4.2012]. Saatavana: http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/ruokamyrkytykset/ruokamyrkytyksia_aiheuttavia_loisia_ja_alkuelaimia/trichinella_spiralis/

Evira. 2011. Hyväksynnän hakeminen. [Verkkosivut]. Elintarviketurvallisuusvirasto. [Viitattu 12.4.2012]. Saatavana: http://www.evira.fi/portal/fi/evira/esittely/toiminta/laboratoritoiminta/eviran_hyvaksymat_laboratoriot/hyvaksynnän_hakeminen/

Forsius, A. 2000. Trikiinitauti eli trikinoosi. [Verkkosivut]. Lääketiedettä — kulttuuria — ihmisiä—kuvauksia historiasta. [Viitattu 3.3.2011]. Saatavana: <http://www.saunalahti.fi/arnoldus/trikiini.html>

Hallanvuori, S & Johansson, T. 2010. Elintarvikkeiden mikrobiologiset vaarat. Eviran julkaisu 1/2010. Vantaa: Multiprint Oy.

Kivinen, T. 2003. Luomusikala Suomen olosuhteissa. [Verkkojulkaisu]. Maa- ja elintarviketalouden tutkimuskeskus. [Viitattu 3.4.2012]. Saatavana: <http://www.mtt.fi/met/pdf/met21.pdf>

Oivanen, L. 2002. Trikiinitutkimus. Työohje lihintarkastukseen liittyvään trikiinitutkimukseen.

Oivanen, L. 2004. Trikiinit 2004. Luentotiivistelmä. Helsinki. Elintarviketurvallisuusvirasto.

- Oivanen, L. 2005. ENDEMIC TRICHINELLOSIS – EXPERIMENTAL AND EPIDEMIOLOGICAL STUDIES. [Opinnäytetyö]. Helsingin Yliopisto. [Viitattu 13.4.2011]. Saatavana: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/ela/perus/vk/oivanen/endemict.pdf>
- Rahkio, M. 2009. Loisia lihassa? [Verkkoartikkeli]. Lihalehti. [Viitattu 1.3.2011]. Saatavana: http://www.lihakeskusliitto.fi/lihalehti/lihatieto/li0411_55-56.pdf.
- Rissanen, T. 2009. Trikiinien testaus siirtymässä akkreditoituihin laboratorioihin. [Verkkolehtiartikkeli]. Kehittyvä Elintarvike 1/2009, 34. [Viitattu 15.2.2011]. Saatavana: <http://kehittyvaelintarvike.fi/teemajutut/34-trikiinien-testaus-siirtymassa-akkreditoituihin-laboratorioihin>
- Ruokatieto. Perustietoa sioista. [Verkkosivut]. Ruokatieto Yhdistys ry. [Viitattu 3.4.2012]. Saatavana: http://opetus.ruokatieto.fi/Suomeksi/Oppimateriaali/Ruoka_ketju/Maatila/Kotielaimet/Sika/Perustietoja_sioista
- SeiLab. 2008. Tutkimukset. [Verkkosivut]. Seinäjoen elintarvike- ja ympäristölaboratorio. [Viitattu 30.6.11]. Saatavana: <http://www.seilab.fi/tutkimukset/>
- Zoonosikeskus. Luonnonvaraisten eläinten Trichinella spp. tutkimukset 2000 – 2010. [PDF-tiedosto]. Zoonosikeskus. [Viitattu 3.4.2012]. Saatavana: http://www.zoonosikeskus.fi/attachments/zoonosit/trikinella/trikinella_3_110816.pdf
- Zoonosikeskus. Trikinellaloisen esiintyvyyden seuranta 2000-luvulla teurassioissa. [PDF-tiedosto]. Zoonosikeskus. [Viitattu 2.4.2012]. Saatavana: http://www.zoonosikeskus.fi/attachments/zoonosit/trikinella/trikinella_1_110816.pdf
- Zoonosikeskus. Trikinelloosi. [Verkkosivut]. Zoonosikeskus. [Viitattu 2.4.2012]. Saatavana: http://www.zoonosikeskus.fi/portal/fi/zoonosit/loisten_ aiheuttamat_taudit/trikinelloosi/

